

松尾 二郎

京都大学大学院工学研究科 附属量子理工学研究実験センター・准教授

## ソフトナノマテリアル3D分子イメージング法の開発

### §1. 研究実施体制

(1)「分子イメージング法の研究」グループ

- ① 研究代表者:松尾二郎(京都大学大学院工学研究科 附属量子理工学研究実験センター、准教授)
- ② 研究項目
  - ・高速重イオンを用いる分子イメージング装置に関するイオン種やエネルギーの探査
  - ・革新的な2次イオン計測システムを用いる分析装置の概念設計

### §2. 研究実施内容

(文中に番号がある場合は(3-1)に対応する)

#### 2-1. 3D 分子イメージング分析手法開発

高速重イオンとoa-ToF(orthogonal acceleration time of flight)を組み合わせることにより、これまで不可能であった生体高分子の可視化や低真空下での SIMS 分析を実現する“Wet-SIMS”法を開発してきた。これまでに、培養細胞や組織切片の質量イメージング測定や揮発性分子の測定などを行いその有用性を示してきた<sup>6)</sup>。23年度は、入射イオンである高速重イオンの収束レンズ系を実際の分析装置に組み込み、空間分解能の向上やイメージング測定時間の短縮などを試みた。

22年度から試作している静電型ダブレット四重極レンズを実際の装置に組み込み、その性能を評価した。試作した四重極レンズは、レンズを支持する絶縁体を高精度に加工するものであり、構造が単純であるという特徴を有している。静電型四重極レンズはこれまで試作例がほとんどないため、簡単な構造を持つレンズをまず試作し、シミュレーションとの比較検討を行った。レンズを組み上げて3次元形状測定器を用いて精度の評価を行ったところ、四重極ロッドや支持絶縁体の加工精度(数ミクロン程度)よりも組み上げ精度(数十ミクロン程度)に課題があることが明らかになった。

この組み上げ精度では収束に影響が生じることが、これまでのシミュレーションの結果から明らかになっており、組み上げ精度の向上が必須である。

6MeV の Cu イオンを用いてこのレンズの収束性能の評価を行った。コンデンサースリットを 500  $\mu\text{m}$  としたときに、X,Y 軸の縮小率として 8.5 倍、6.9 倍、また、このときにビーム電流密度を 75 倍に向上することができた。ビーム収束後の電流密度としては、約  $2\ \mu\text{A}/\text{cm}^2$  ( $1.5 \times 10^{13}\text{ions}/\text{cm}^2$ ) が得られ、Static Limit を  $10^{12}\text{ions}/\text{cm}^2$  とすると 0.1 秒以内に 1pixel の測定が終了できることになる。100x100 pixel のイメージング分析を 1000 秒以内に行うという初期目標をこのレンズを用いることで達成することができた。しかし、収束後のビーム径は数十  $\mu\text{m}$  であり、レンズ性能自身は設計目標より一桁悪い値となってしまった。

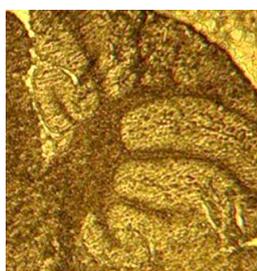
このため、新しい構造を持つ静電型四重極レンズとして、産総研の岡山氏が電子顕微鏡の収差補正レンズとして提案している自己整合型四重極レンズの設計製作を進めている。このレンズの特徴は全ての部品が円筒形あるため加工精度が優れていること、四重極レンズの位置が自己整合的に決まること、レンズ同士の回転ずれがほとんど無いことなどが上げられる。岡山氏に協力していただき実際にレンズ部品を試作したところ、絶縁物(セラミクス)の加工精度が最も悪いことが明らかになった。このため、複数本のロッドを研削し加工精度の評価を行い、最も良い組み合わせを選ぶこととした。数ミクロンの精度で組み上げるための治具や組み上げ手法についても検討を加え、次年度に実際の装置に組み込み性能評価をおこなう。

## 2-2. ソフトマテリアルエッチング技術

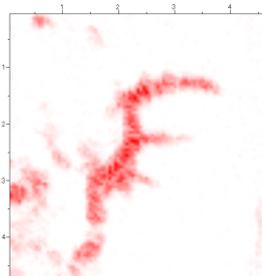
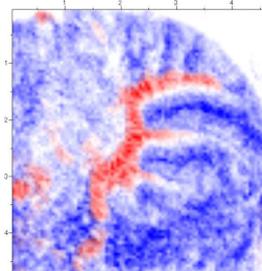
22 年度から開発を行っている収束クラスターイオン銃と垂直引き出し型飛行時間質量分析装置 (oa-ToF) を組み合わせた新型質量イメージング装置を開発した。この装置は、1次イオンをパルス化することなく ToF 質量スペクトルを取得することができるので、測定時間の短縮や質量分解能の向上などこれまでにない優れた特徴を有するクラスターSIMS 装置である。

高速重イオン SIMS で開発してきた oa-ToF 装置と 22 年度から進めてきた収束クラスターイオン源の成果を最大限に活かす事で、半年の短期間で装置開発を行うことができた。対物レンズの収束性能は、数十  $\mu\text{m}$  とまだ十分とはいえないが、 $100\ \mu\text{A}/\text{cm}^2$  以上の高いビーム電流密度を実現できた。実効的に低エネルギービームであるクラスター

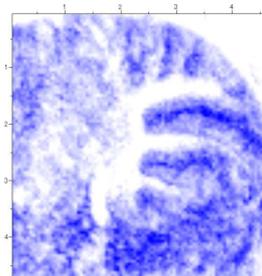
### 光学顕微鏡像



### オーバーレイ像



m/z 369.7  
コレステロール



m/z 773.0  
フォスファチジルコリン  
(PC32:0)

図 Ar クラスターイオンを1次イオンとして用いて分析したラット小脳の分子イメージング像 分子イメージ像は光学顕微鏡像と良い一致を示している。

イオンの特徴を活かし、static limit のない SIMS 分析の実現を試みた。

ラット小脳組織切片中の生体高分子分布の分子イメージング像観察をおこなった結果を図に示す。ラットから摘出した脳組織を急速凍結し、クライオマイクロームで切片化した試料を用いた。ラットの脳小脳中にあるコレステロール [m/z:369.7]、フォスファチジルコリン(PC(32:0)) [m/z:773.0]を分子イメージングした。図中の光学顕微鏡像からも判るように、小脳は白質層、顆粒層、分子層からなることが解剖学的に知られている。脳の中のリン脂質分子の分布はこれまで明らかにしてきたように局在性が高い。質量イメージング分析から、コレステロールは白質層に多く含まれており、フォスファチジルコリン(PC(32:0))は分子層に多く含まれている。このように組織切片においても、クラスターイオンを用いることで分子イメージング像を観察できることを示すことに成功した。クラスターイオンは分子構造を壊すことなくエッチングできるので<sup>5,7)</sup>、分子の3次元分布測定への道も開けた。今後は、感度向上やビーム径の縮小などを行い、高感度で高空間分解能の質量イメージング技術として開発を進めていく。

### 2-3. ナノ・バイオ材料分析プロトコール

生命科学で用いられる実際のサンプルには様々な生体高分子が存在しているため、純粋な分子からなる標準試料とは大きく異なる。Na や K などのアルカリ金属は数%の濃度で存在し、それらが付加した2次イオンも SIMS スペクトル中には多く観察される。このため、生体試料の標準サンプルを確立することは、様々な分析手法の比較を行うときには必須ともいえる。しかし、通常の細胞や切片などの生体試料は、均一な分子分布を持っていないだけでなく、固体ごとの違いがあるため標準試料としては適切ではない。さらに、クラスターイオンの場合には、生体組織を損傷無くエッチングをすることが可能であるため、深さ方向にも均一な試料が求められる。培養したラットの細胞をホモジナイズし均一に塗布する手法を開発し、標準サンプルとして利用できることを明らかにした。また、この標準サンプルは生ものであるため、劣化を避けるため極低温で保管することが必要である。ディープフリーザーに標準サンプルを保管し、1時間以内に解凍計測できるようなプロトコールを開発した。今後このサンプルを用いて他の装置や手法での評価を行う。

### §3. 成果発表等

#### (3-1) 原著論文発表

##### ● 論文詳細情報

1. T. Aoki, T. Seki and J. Matsuo, “Molecular dynamics simulations of large fluorine cluster impact on silicon with supersonic velocity”, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B, Vol. 269, pp. 1582-1585, 2011, Jul., (DOI: 10.1016/j.nimb.2010.12.013).
2. M. Hada, K. Okimura and J. Matsuo, “Photo-induced lattice softening of excited-state VO<sub>2</sub>”, Appl. Phys. Lett. Vol. 99, pp.051903, 2011, Aug., (DOI: 10.1063/1.3621900).
3. M. Hada, J. Matsuo, “Evaluation of lattice motion in CdTe single crystal using in-air tabletop time-resolved X-ray diffractometer”, IOP Conf. Ser.: Mater. Sci. Eng. Vol.24, pp.012010, 2011 (DOI: 10.1088/1757-899X/24/1/012010).
4. K. Ichiki, S. Ninomiya, T. Seki, , T. Aoki and J. Matsuo, “The effects of cluster size on sputtering and surface smoothing of PMMA with gas cluster ion beams”, Transactions of the MRS-J, Vol.36[3], pp. 309-312, 2011, Sep., (Proceeding).
5. Y. Yamamoto, K. Ichiki, T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo, “Evaluation of damage depth on arginine films with molecular depth profiling by Ar cluster ion beam”, Transactions of the MRS-J, Vol.36[3] pp. 313-316, 2011, Sep., (Proceeding).
6. Y. Wakamatsu, H. Yamada, S. Ninomiya, B. N. Jones, T. Seki, T. Aoki, R. Webb and J. Matsuo, “Highly Sensitive Molecular Detection with Swift Heavy Ions”, Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B, Vol.269, pp. 2251-2253, 2011, Oct., (DOI: 10.1016/j.nimb.2011.02.069).
7. M. Hada, S. Ibuki, Y. Hontani, Y. Yamamoto, K. Ichiki, S. Ninomiya, T. Seki, T. Aoki, J. Matsuo, “Low Damage Milling of an Amino Acid thin film with Cluster Ion Beam”,
8. T. Seki, T. Aoki and J. Matsuo, Etching of Metallic Materials with Cl<sub>2</sub> Gas Cluster Ion Beam”, Surface & Coatings Technology, Vol. 206 Issues 5, pp. 789-791, 2011,

Nov., (DOI: 10.1016/j.surfcoat.2011.04.054 ).

9. H. Gnaser, K. Ichiki and J. Matsuo, “Strongly reduced fragmentation and soft emission processes in sputtered ion formation from amino acid films under large  $\text{Ar}_n^+$  ( $n \leq 2200$ ) cluster ion bombardment”, *Rapid Communications in Mass Spectrometry*, Vol. 26, Issue 1, pp.1–8, 2012, Jan., (DOI: 10.1002/rcm.5286).
10. G. Moriena, M. Hada, G. Sciaini, J. Matsuo and R.J.D. Miller, “Femtosecond electron diffraction: Preparation and characterization of (110)-oriented bismuth films”, *J. Appl. Phys.*, Vol. 111, pp.043504, 2012, Feb., (DOI: 10.1063/1.3684975).
11. T. Aoki, T. Seki and J. Matsuo, “Molecular dynamics study of crater formation by core-shell structured cluster impact”, *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 2011, Sep., (In Press)